



INFORMATIONS

OCCGE-Inf. N° 92 - 1984 - pp. 55 - 81

LES TENTATIVES DE VACCINATION DANS LE PALUDISME

Par C. BOUDIN⁽¹⁾

N° 8 381/83/Doc.Tech.OCCGE

Les études sur l'immunisation active contre le plasmodium ont commencé depuis plus de 40 ans. Mais l'efficacité des autres méthodes de lutte basées sur l'emploi d'insecticides ou d'antimalariques a fait négliger ce type de recherches. Ce n'est que, depuis l'abandon par l'OMS de la politique d'éradication du paludisme, que les chercheurs se sont à nouveau penchés sur le problème de la vaccination antipalustre.

Les progrès réalisés dans l'immunologie du paludisme et la possibilité de cultiver *in vitro* le plasmodium ont permis de faire avancer de manière spectaculaire les recherches en matière de vaccination. Trois maillons du cycle biologique du parasite ont été principalement visés : le gamète qui déclenche l'infection chez le vecteur, les formes asexuées intraérythrocytaires qui sont responsables de la morbidité et de la mortalité du paludisme chez l'hôte et enfin les sporozoïtes qui sont le premier stade infectant du parasite chez cet hôte. Mais de nombreux problèmes se posent encore du fait de l'absence de modèle expérimental suffisamment proche de l'homme pour comprendre les mécanismes protecteurs et du fait de la précarité de l'équilibre entre cette immunité protectrice et les mécanismes d'évitement du parasite chez l'hôte immun.

Nous allons passer en revue les différentes tentatives de vaccination par les gamètes, les formes asexuées intraérythrocytaires et les sporozoïtes. Nous développerons les progrès récents et les problèmes que soulèvent ces différents types de vaccination.

I - TENTATIVES DE VACCINATION PAR LES FORMES SEXUEES DU PLASMODIUM

Lors de son repas sanguin sur un hôte infecté, le moustique ingère des gamétocytes qui vont subir un cycle de développement complexe chez ce vecteur pour aboutir aux sporozoïtes, formes infectantes du plasmodium pour l'homme. La destruction des gamétocytes aboutira donc à l'interruption de la transmission de la maladie. C'est en partant de ce postulat que de nombreux auteurs ont tenté de produire une immunité protectrice contre les gamétocytes chez différents hôtes.

1 - Médecin ORSTOM - Chargé de Recherches auprès du Centre Muraz - OCCGE - BP 153 - Bobo-Dioulasso (Haute-Volta).

1-1- TENTATIVE DE VACCINATION

Différents modèles expérimentaux ont été utilisés : l'oise et *P. fallax*, les poussins et *P. gallinaceum*, la souris et *P. yoelii*, le singe rhésus et *P. knowlesi*. Les principaux résultats de la littérature sont rassemblés dans le tableau I. Différents types d'antigènes ont été essayés : les gamétocytes du sang circulant chez l'homme infecté ou les gamètes chez le moustique. Différentes techniques d'atténuation du parasite ont été utilisées : la formolisation des parasites qui sont tués ou l'irradiation qui diminue l'infectivité sans altérer la viabilité du parasite. L'introduction par voie veineuse de contamination naturel. Les injections sont répétées à des intervalles variables selon les auteurs.

Finalement, les gamétocytes ou les gamètes, formolés ou irradiés semblent être immunogènes. CARTER et al 1979 ont étudié le pouvoir vaccinant comparé des gamètes et des gamétocytes de *P. gallinaceum* chez le poussin. Il semble que la gamète soit un meilleur immunogène. L'efficacité vaccinale dépend de la dose de gamètes introduites. (Tableau I).

1-2- POTENTIALISATION DE L'IMMUNITÉ PROTECTRICE

L'immunité obtenue par ce type de vaccination est forte. Pratiquement tous les gamétocytes du sang circulant perdent leur pouvoir infectieux pour le moustique, mais cette immunité protectrice semble être de courte durée et c'est là que les adjuvants de l'immunité peuvent renforcer l'efficacité vaccinale. GWADZ et GREEN, 1978/79 ont essayé différents adjuvants en introduisant l'antigène par voie IM et sous-cutanée. L'immunité est beaucoup moins forte que par voie veineuse.

1-3- LES MANIFESTATIONS DE L'IMMUNITÉ PROTECTRICE

L'immunisation par les gamètes n'affecte pas la gaméotogenèse ni la parasitémie sanguine chez l'hôte vertébré mais seulement le pouvoir infectant du gamétocyte. Elle est spécifique d'espèce et de stade. (HUFF et al 1978) (GWADZ, 1976) (CARTER ET CHEN, 1976) (CARTER et al 1979a). Les gamétocytes des sujets vaccinés recouvrent leur infectivité quand ils sont remis en suspension dans du sérum normal (GWADZ, 1976). Inversement, de l'hyperimmun sérum ajouté à des gamétocytes normaux supprime leur infectivité (GWADZ, 1976). Le facteur immunosuppresseur du sérum est une immunoglobuline donc très certainement un anticorps protecteur. Cet anticorps empêche le développement de l'ocyste dans l'estomac du moustique après ingestion des gamétocytes. Quand il est ajouté après la fertilisation des gamétocytes, l'immun sérum n'a aucun effet sur le développement de l'ookinète (GWADZ, 1976, CARTER et al 1979b).

1-4- LES ANTIGÈNES PROTECTEURS DU GAMÈTE

La cible de cet Ac protecteur est très probablement un Ag de surface du gamète. Partant de cette hypothèse, RENER et al 1980 et 1981 ont isolé 2 Ac monoclonaux antigamète de *P. gallinaceum* possédant la propriété d'agglutiner les gamètes, d'être spécifique de stade et d'espèce et enfin d'inhiber l'infectivité du moustique. A partir de ces anticorps purifiés il reste à isoler les fractions antigéniques spécifiques qui supportent le pouvoir immunogène du gamète.

1-5- L'EXPLORATION DE L'IMMUNITÉ DE PROTECTION

Nous avons maintenant la possibilité d'isoler les fractions antigéniques spécifiques qui supportent le pouvoir immunogène des gamètes. La vaccination est donc théoriquement possible. Mais comment mesurer cette ef-

ficacité vaccinale ?

Actuellement deux techniques sont utilisées dans les différents modèles expérimentaux ce sont :

- Premièrement l'incubation de gamétocytes normaux avec de l'immun sérum. Ce sérum doit inhiber l'infectivité des gamétocytes pour les moustiques
- Deuxièmement l'immobilisation des gamètes sur plaque de verre par l'immun sérum. Ce pouvoir immobilisant semble proportionnel à l'immunité protectrice (GWADZ et al 1979) (CARTER et al 1979b).

Ces techniques sont inapplicables en campagne de masse pour doser les anticorps protecteurs. La possibilité d'isoler les antigènes spécifiques permettra peut être d'appliquer une des techniques sérologiques conventionnelles pour le dosage de ces anticorps protecteurs.

CONCLUSION

La vaccination par des gamètes est théoriquement possible. Elle est réalisée chez des oiseaux et chez le singe Rhesus. Aucune étude n'a encore été faite avec des plasmodiums humains chez le singe Aotus, ni chez l'homme. Cette immunité, dans les modèles animaux expérimentés est forte, spécifique de stade et d'espèce, mais semble de courte durée et n'interrompt que la transmission de l'infection au vecteur. Elle est sans retentissement sur l'évolution de la maladie palustre.

De nombreux problèmes restent encore à résoudre avant son application à l'homme. Les plasmodiums humains entraînent-ils le même type d'immunité ? Pourra-t-on mettre au point un adjuvant de l'immunité non toxique qui renforcera la durée de la protection, et permettra une voie d'introduction plus facile ? Pourra-t-on fabriquer assez d'antigène spécifique pour l'industrialisation du vaccin ?... (La production de gamétocytes en grande quantité est difficile malgré les progrès de la culture *in vitro* du plasmodium les récentes techniques de génie génétique ouvrent toutefois des perspectives d'avenir très intéressantes) (KILEGRAN, 1980).

BIBLIOGRAPHIE SUR LES VACCINATIONS PAR GAMÈTES

- 1 - CARTER R.W. et al Gamete vaccine and transmission-blocking immunity in malaria. Bull.OMS, 1979 57 suppl. 175-180.
- 2 - CARTER R. et al. - *P. gallinaceum* : transmission blocking immunity in chicken. I) comparative immunogenicity of gametocyte and gamete containing preparations. Exp.parasitol. 1979 47 185-193 (a)
- 3 - CARTER R. et al. - *P. gallinaceum*. Transmission blocking immunity in chickens. II) the effect of antigamete antibodies *in vitro* and *in vivo* and their elaboration during infection. Exp. parasito. 1979 47 194-208 (b).
- 4 - GWADZ R.W. - Malaria : successful immunization against the sexual stage of *P. gallinaceum*. Science 1976 193 1150.
- 5 - GWADZ R.W. et al. - Malaria immunization in rhesus monkeys. A vaccine effective against both the sexual and asexual stages of *P. knowlesi*. J. Exp.med. 1978 148 1311-1323.
- 6 - GWADZ R.W. et al - Gamete vaccine and transmission-blocking immunity in malaria. Bull. OMS 1979 57 suppl 175-180.

- 7 - HUFF C.G. - MARCHBANK D.F. - Changes in infectiouness of malarial gametocytes. I) patterns of oocytes production in seven host-parasite combinations. Exp. Parasito. 1955 4 256-270.
- 8 - HUFF C.G. et al - Changes in infectiouness of malarial gametocytes. II) analysis of the possible causative factors. Exp. Parasito. 1958 7 399-417.
- 9 - KILEJIAN A. - Prospects and problems in the use of recombinant DNA for the production of a malaria vaccine. Am.J.Trop.Med.Hyg. 1980 29 supplt 1125-1128.
- 10 - RENER J. et al - The production of hybridoma antibodies against surface antigens on malaria In "Immunodiagnostic techniques in malaria" 3d meeting of the scientific working group on the immunology of malaria. Panama 1979 p 63-71.
- 11 - RENER J. et al - Antigamete monoclonal antibody synergistically block transmission of malaria by preventing fertilisation in the mosquito. Proc. Natl.Acad.Sci. USA 1980 77 6797-6799.

TABLEAU I

TENTATIVES DE VACCINATION AVEC DES GAMETES DE PLASMODIUM

MODELE EXPERIMENTAL	METHODE D'IMMUNISATION	ADJUVANT	MODE D'ADMINISTRATION	RESULTATS	AUTEURS
<i>P. fallax</i> - <i>vie</i>	gamétocytes formolés	-	IV répétées	Immunité forte	HUFF et al 1955
<i>P. gallinaceum</i> poussins	gamétocytes formolés	-	IV répétées	Immunité forte	HUFF et al. 1955
<i>P. gallinaceum</i> poussins	gamétocytes formolés	-	IV répétées	Immunité forte	GWADZ, 1976
<i>P. gallinaceum</i> poussins	gamètes irradiés	-	IV répétées	Immunité forte	CARTER ET CHEN, 1976
<i>P. gallinaceum</i> poussins	gamétocytes irradiés gamètes irradiés	-	IV répétées	Immunité forte	CARTER et al. 1979a
		-	IV répétées	Immunité très forte	
<i>P. yoellii</i> - souris	gamètes ?	-	IV répétées	Immunité forte	MENDIS et TARGETT, 1979
<i>P. knowlesi</i> - rhesus	gamètes ?	-	IV répétées	Immunité forte	GWADZ et GREEN 1978
<i>P. knowlesi</i> - rhesus	gamètes ?	FCA	IM répétées	Immunité partielle	GWADZ et GREEN, 1978
<i>P. knowlesi</i> - rhesus	gamètes ?	FIA BCG DPT	IM répétées S/Cutanée IM	Immunité partielle " "	GWADZ et GREEN, 1979

II - TENTATIVES DE VACCINATION PAR LES FORMES ASEXUEES INTRAERYTHROCYTAIRES DU PLASMODIUM

Chez l'homme, en milieu endémique, il existe une immunité protectrice qui se manifeste, entre autre, par la limitation de la charge parasitaire malgré des réinfestations itératives par les anophèles. C'est en partant de cette constatation que les auteurs ont tenté d'induire une immunité protectrice contre les formes asexuées intraérythrocytaires du plasmodium, chez différents hôtes.

2-1- LES TENTATIVES DE VACCINATIONS

Différents modèles expérimentaux ont été utilisés : les canaris et *P. cathemerium*, le canard et *P. lophurea*, les poussins et *P. gallinaceum*, les rongeurs et *P. berghei*, *P. yoelii*, *P. vinckei* ou *P. chabaudi*, les primates non humains (Rhesus et Aotus) et les plasmodiums de singe (principalement *P. knowlesi*) ou les plasmodiums humains (principalement *P. falciparum*). Différents types d'antigènes ont été essayés : des globules rouges parasités formés ou chauffés, des schizontes tués au formol, désintégrés par pression, par ultrasons, par congélations-décongélations successives, ou par irradiations ; des mérozoïtes dont la durée du pouvoir de pénétration à l'état libre est très réduite ce qui permet de supprimer très rapidement son pouvoir infectant. Ces antigènes ont été le plus souvent utilisés entiers, rarement sous forme soluble après différentes techniques d'extraction.

De nombreuses voies d'administration et schémas d'immunisation ont été essayés : introduction par voie veineuse, sous-cutanée, intramusculaire, intrapéritonéale, dans le coussinet plantaire chez les souris. Les principales expériences et leurs résultats sont rassemblées dans le tableau II.

Finalement le meilleur immunogène semble être le mérozoïte vivant introduit par voie intramusculaire répétée sur 1 à 2 mois, ou une fraction antigénique de membrane de schizonte introduite aussi en IM répétées. Les schizontes irradiés sont aussi susceptibles d'induire une certaine immunité protectrice. Les résultats sont sensiblement identiques quel que soit le modèle expérimental. L'immunité protectrice n'est que partielle, c'est-à-dire qu'elle ne permet, lors des réinfections, qu'une diminution de la charge parasitaire par rapport aux témoins non vaccinés. En ce sens elle se différencie de l'immunité acquise après vaccination par gamète qui est beaucoup plus forte.

2-2- POTENTIALISATION DE L'IMMUNITE

L'immunoprotection engendrée par les formes érythrocytaires est faible et nécessite la potentialisation par un adjuvant de l'immunité. De nombreux adjuvants ont été utilisés. Le meilleur est l'adjuvant complet de FREUND. Mais celui-ci est toxique pour l'homme. Il est donc particulièrement important de découvrir un adjuvant atoxique et qui puisse allonger et renforcer la durée de l'immunité.

2-3- LES MANIFESTATIONS DE L'IMMUNITE PROTECTRICE

La vaccination par les formes asexuées intraérythrocytaires du parasite entraîne une immunité protectrice à prédominance humorale. Le volet cellulaire de cette immunité existe mais il est mal étudié (KREIER et GREEN, 1980). Cette immunité protectrice après vaccination a été mise en évidence par des expériences de transfert d'hyperimmun à des animaux sains et soumis à une primo infection par le plasmodium homologue (KILEJIAN, 1978). Cette

immunité protectrice est spécifique de stade et d'espèce. Les anticorps protecteurs ne détruisent pas les schizontes intraérythrocytaires. Il semble que la cellule cible principale soit le mérozoïte durant son stade libre avant pénétration dans un GR normal (KREIER et GREEN, 1980).

Il a été démontré, *in vitro*, que les Ac antimalariques protecteurs bloquaient la réinvasion, probablement par saturation du récepteur membranaire du globule rouge pour le mérozoïte, ou par agglutination des mérozoïtes libres. D'autres mécanismes protecteurs sont possibles : lyse du mérozoïte par l'activation du complément, potentialisation de l'activité cytotoxique de certaines cellules immunocompétentes pour le mérozoïte revêtu par l'anticorps spécifique.

Mais le schizonte mûr ou le trophozoïte intraérythrocytaire peuvent être aussi une cible pour les mécanismes immunoprotecteurs. En effet certains Ag du plasmodium apparaissent à la surface du globule rouge (DEAN et al, 1978 - WALLACH et CONLEY, 1977 - BANNISTER et al, 1975 - POELS et al, 1978). Ces Ag peuvent être reconnus par des Ac protecteurs spécifiques. L'immun complexe ainsi formé est susceptible d'activer un certain nombre de mécanismes de défense qui sont : l'accélération de la phagocytose par des macrophages ou des polynucléaires porteurs d'un récepteur pour le fragment Fc des Ig, opsonisation par des "macrophages armés", toxicité cellulaire, lyse par le complément activé.

Ces principales hypothèses sont rassemblées dans le tableau III avec les références bibliographiques correspondantes.

2-4- LES ANTIGENES PROTECTEURS

La cible des mécanismes humoraux de défense contre les formes intraérythrocytaires du plasmodium semble être certains antigènes de surface du mérozoïte ou du globule rouge parasité. Partant de cette hypothèse, de nombreux auteurs ont essayé d'isoler des Ac monoclonaux doués d'activité protectrice dans le but de caractériser secondairement des Ag protecteurs spécifiques.

FREEMAN en 1980 obtient par la technique d'hybridome une série d'Ac monoclonaux contre *P. yoelii*. Deux de ces Ac monoclonaux protègent la souris saine lors des expériences de primo-infection. Cet auteur isole l'un des antigènes spécifiques de ces Ac monoclonaux (FREEMAN, 1981). Il s'agit d'un Ag de PM 240 000 qui immunise partiellement la souris contre *P. yoelii*. Cet Ag est en cours de purification.

EPSTEIN, 1981 a récemment isolé trois Ac monoclonaux contre *P. knowlesi* doués d'un pouvoir protecteur. Les trois Ac agglutinent des mérozoïtes de *P. knowlesi* et sur les trois, deux bloquent l'invasion des érythrocytes. Les auteurs ont isolé un Ag de surface de PM 250 000 sur le mérozoïte. Cet Ag est spécifique de *P. knowlesi* mais est retrouvé sur différentes souches géographiques. Des tentatives de purification et de vaccination à partir de cet Ag sont en cours.

PERRIN et al, 1981 viennent d'isoler une série d'Ac monoclonaux contre *P. falciparum*. Certains d'entre eux sont capables d'inhiber la croissance des cultures de *P. falciparum* et la réinvasion des globules rouges par des mérozoïtes.

2-5- L'EXPLORATION DE L'IMMUNITE DE PROTECTION

L'isolement prochain de certaines fractions antigéniques protectrices rend la vaccination théoriquement possible. Mais comment mesurer cette ef-

ficacité vaccinale ? Nous possédons plusieurs technique non applicables en dépistage de masse, ce sont l'inhibition de la croissance *in vitro* de cultures du parasite en présence d'HIS (GREEN et al., 1981), l'inhibition de l'invasion de GR par les mérozoïtes (LAMONT et al., 1981) et l'effet cytotoxique des lymphocytes ou des macrophages armés en présence d'HIS sur les GR parasités (BROWN et SMALLEY, 1980 - BROWN et al., 1981). L'isolement des fractions antigéniques spécifiques des mécanismes protecteurs permettra probablement la mise au point de nouveaux tests diagnostiques.

CONCLUSION

L'induction d'une certaine protection contre les formes érythrocytaires du plasmodium est possible. Elle est spécifique de stade et d'espèce. Elle est partielle même avec l'association d'adjuvants de l'immunité permettant de réduire seulement la morbidité et la mortalité dues au paludisme. De nombreux problèmes sont encore à résoudre : le modèle homme-plasmodium humain entraîne-t-il le même type d'immunité ? Pourra-t-on mettre au point un adjuvant de l'immunité renforçant la protection et augmentant sa durée ? Pourra-t-on obtenir des Ag protecteurs spécifiques qui permettent une immunité solide ? En effet, les mécanismes immunoprotecteurs intervenant contre les formes érythrocytaires sont nombreux, complexes et certainement interdépendants les uns des autres. La vaccination par des fractions antigéniques isolées risque d'être décevante. C'est ainsi que FREEMAN et al., 1980 ont noté que le transfert passif d'Ac monoclonaux protecteurs induisait une résistance beaucoup plus faible chez la souris que le transfert d'HIS total. Il est donc probable que le futur vaccin nécessite l'addition de différents Ag protecteurs des divers espèces plasmodiales.

TABLEAU II

TENTATIVES DE VACCINATION PAR LES FORMES INTRAERYTHROCYTAIRES DE PLASMODIUM

MODELE EXPERIMENTAL	METHODE D'IMMUNISATION	ADJUVANT	MODE D'ADMINISTRATION	RESULTATS	AUTEURS
<i>P. cathemerium canaris</i>	schizontes formolés	-	12 IV répétées	Immunité partielle	REDMOND, 1939
<i>P. cathemerium canaris</i>	schizontes chauffés	-	12 IV répétées	Immunité partielle	GINGRICH, 1941
<i>P. lophurea canards</i>	schizontes libres tués "	-	S/c répétées	Immun. faible	JACOBS, 1943
		toxine staphy.	Sc répétées	Immun. forte	
<i>P. cathemerium canards</i>	schizontes formolés "	-	?	Pas de protection	THOMPSON et al., 1947
		FCA	?	Immun. forte	
<i>P. lophurea canards</i>	schizontes formolés	FCA	?	Immunité forte	COFFIN, 1951
<i>P. gallinaceum poussins</i>	schizontes formolés	FCA	?	Pas de protection	COFFIN, 1951
<i>P. lophurea poussins</i>	schizontes formolés	FCA	?	Protection forte croisée <i>Lophurea</i> et <i>gallinaceum</i>	COFFIN, 1951
<i>P. gallinaceum poussins</i>	schizontes tués	saponine	3 IV répétées	Immunité faible	RICHARDS, 1966
<i>P. lophurea caneton</i>	Ag purifié riche en histidine	FCA	3 IM répétées 7 jours faible dose forte dose	Pas de protection Immun. forte	KILEJIAN, 1978
<i>P. berghei rats</i>	schizontes désagrégés	FCA	1 à 5 s/c	Protection proportionnelle Nb S/c	ZUCKERMAN et al., 1967
<i>P. berghei rats</i>	schizontes homogénéisés	-		Immunité faible	DESOWITZ, 1967
<i>P. berghei rats</i>	schizontes irradiés	-		Immunité partielle	CORRADETTI et al., 1966
<i>P. berghei rats ou souris</i>	schizontes irradiés	-		Immunité partielle	WELDE et SADUN 1966

<i>P. berghei</i> souris	schizontes irradiés	-	Différentes voies IV répétées	Immunité partielle Immun. forte	JERUSALEM et ELING, 1969
<i>P. berghei</i> souris	schizontes désagrégés purifiés	-	IV répétées	Protection variable se- lon purifi- cation	D'ANTONIO et al. 1972a
<i>P. berghei</i> souris	schizontes tués	-	IP répétées	Immunité partielle	d'ANTONIO et al. 1972b
<i>P. berghei</i> rats	?	différents adjuvants	?	Pas de protection	DESOWITZ 1975
<i>P. berghei</i> souris	schizontes congelés décongelés	FCA	Intra coussinet plantaire	pas de protection	REISEN et HILLIS, 1975
<i>P. yoelii</i> souris	-	BCG (IV)	-	Immunité partielle	CLARK et al. 1976a
<i>P. vinckei</i> souris	-	BCG (IV)	-	Immunité partielle	CLARK et al. 1976a
<i>P. vinckei</i> souris		Coryn parvum		Immunité moins forte que BCG	CLARK et al. 1976b
<i>P. chabaudi</i> souris		Coryn parvum	-		
<i>P. yoelii</i> souris	schizontes tués	D. pertus- sis	Différentes voies ou IV répétées	Immunité partielle Immun. forte	PLAYFAIR et al. 1977
<i>P. berghei</i> souris	"	"	"	Immun. faible	
<i>P. berghei</i> rats	schizontes + mérozoïtes 60 %	FCA Saponine	I S/c "	Immun. forte Immun. forte	SAUL et KREIER, 1977
<i>P. berghei</i> rats	schizontes + mérozoïtes 60 %	FCA saponine	I S/c I S/c I S/c	Immun. forte Immun. forte Echec	GROTHAUS et KREIER, 1980
<i>P. knowlesi</i> rhesus	schizontes tués	-	?	Echec	EATON et COGGESHALL, 1939
<i>P. knowlesi</i> rhesus	schizontes tués	-	?	Echec	SHORT et MENON, 1940
<i>P. knowlesi</i> rhesus	schizontes tués	FCA	2 S/c	Immunité forte	FREUND et al. 1945
<i>P. knowlesi</i> rhesus	schizontes tués. GR para- sités, formolés	FCA	Différentes voies S/c et IM 2 fois	Immunité forte avec FCA et IM	TARGETT et FULTON, 1965
<i>P. knowlesi</i> rhesus	schizontes tués	FIA FCA	? ?	Immun. spéci- fique de variant Immun. spéci- fique d'es- pèce	BROWN et al., 1968

<i>P. knowlesi</i> rhesus	schizontes vivants + chi- miothérapie schizontes tués schizontes tués	- FCA FIA	I IV 2 S/c 2 S/c	Immun. faible spécif. va- riant Immun. forte spécif. es- pèce Pas protec- tion	BROWN et al., 1970
<i>P. knowlesi</i> rhesus	schizontes tués	Différents adjuvants	?	Protection ou non dé- pend des as- sociations d'adjuvants entre eux	BROWN et TANAKA, 1975
<i>P. knowlesi</i> rhesus	schizontes désagrégés purifiés	-	?	Protection partielle	D'ANTONIO et al., 1972
<i>P. knowlesi</i> rhesus	schizontes désintégrés purifiés	FCA BCG Poly AU	? ? ?	Immun. forte Echec Echec	SCHENKEL et al., 1975
<i>P. knowlesi</i> rhesus	schizontes désintégrés purifiés	BCG	2 IM	Immunité partielle	D'ANTONIO et al., 1975
<i>P. knowlesi</i> rhesus	schizontes homogénéisés purifiés	FCA +	2 IM	Immunité partielle	SIMPSON et al., 1974
<i>P. knowlesi</i> rhesus	schizontes désintégré purifié lyophilisé	différents adjuvants	?	Immun. forte Immun. forte Echec	SCHENKEL et al., 1975
<i>P. knowlesi</i> rhesus	schizontes homogénéisés lyophilisé	-	?	Immunité forte	CABRERA 1976
<i>P. knowlesi</i> rhesus	Ag circulant soluble S	FCA FIA	S/c répétées IM répétées	Echec Echec	COLLINS et al., 1977
<i>P. knowlesi</i> rhesus	Mérozoïtes	FCA FIA	2 à 4 IM	Immun. forte Pas de protection	COHEN et al., in KREIER
<i>P. knowlesi</i> rhesus	Mérozoïtes con- gelés lyophili- sés	FCA	2 IM en 1 mois	Immun. forte croisée avec variant	MITCHELL et al., 1977
<i>P. knowlesi</i> rhesus	Méroz. vivants Méroz. formolés	FCA FCA	2 IM en 1 mois	Immun. part. Immun. forte	RICHARDS et al., 1977
<i>P. knowlesi</i> rhesus	Méroz. vivants " "	MDP/FCA B. pertus- sis FCA	2 IM en 1 mois	Immun. faible " Immun. forte	MITCHELL et al., 1977

<i>P. knowlesi</i> rhesus	schiz. cong/décon schiz. désintégré Mérozoïtes	FCA " "	2 IM en 1 mois	Immun. part. Immun. forte Immun. part.	RIECKMAN et al. 1978
<i>P. falciparum</i> Aotus	schizontes tués	FCA	2 IM en 5 sem.	Echec	VOLER et RICHARDS, 1968
<i>P. falciparum</i> Aotus	schizontes irradiés	-	4 IM répétées	Immun. part. dose dépendante	SADUN et al., 1969
<i>P. falciparum</i> Aotus	schizontes irradiés	-	4 IM répétées	Immun. part. dose dépendante	WELDE et al. 1979
<i>P. falciparum</i> Aotus	schizontes + Mérozoïtes	FCA	2 IM en 2 sem.	Immun. forte	SIDDIQUI et al., 1977
<i>P. falciparum</i> Aotus	Mérozoïtes	FCA	3 IM à 2-3 sem.	Immun. partielle	MITCHELL et al., 1977b
<i>P. falciparum</i> Aotus	Mérozoïtes	FCA	3 IM en 2-3 sem.	Immun. partielle	SIDDIQUI et al., 1978b
<i>P. falciparum</i> Aotus	Mérozoïtes	FCA FIA	2 IM en 2-3 sem. "	Immun. partielle	REESE et al., 1978a
<i>P. falciparum</i> Aotus	Schizontes + Mérozoïtes 60 %	MDP + FIA	2 IM en 2-3 sem.	Immun. partielle	SIDDIQUI et al., 1978c
<i>P. falciparum</i> Aotus	Schizontes + Mérozoïtes	MDP modifiée +Liposome	2 IM à 4 sem.	Immun. partielle bonne tolérance adjuvant	SIDDIQUI et al. 1978d

TABLEAU III : - Fonction des anticorps antipalustres contre les stades asexués érythrocytaires.

/ Mérozoïtes : /

- Inhibition de l'invasion érythrocytaire (Miller et al., 1975) (PHILLIPS et al., 1972) (WILSON et PHILLIPS, 1976) (PERRIN et al., 1981).

- Saturation des récepteurs pour les mérozoïtes (?)

- Inhibition du relargage des mérozoïtes par les schizontes (GREEN et al., 1981)

- Agglutination et opsonisation des mérozoïtes (TRUBOWITZ et MASEK, 1968).

- Lyse médiée par le complément activé (?)

- Cytotoxicité anticorps dépendante (?)

/ Schizontes : /

- Opsonisation et phagocytose (HUNTER et al., 1979) (LANGRETH et REESE, 1979)

- Cytotoxicité anticorps dépendante (BROWN et SMALLEY, 1980) (GREEN et KREIER, 1978)

- Inhibition du filtrage par les ϵ endothéliales (UDEINYA et al., 1981)

- Altération du métabolisme parasitaire intraérythrocytaire par couplage des GR infectés avec les Ac. spécifiques (?)

- Lyse médiée par le complément (?)

GRAPHIE SUR LES VACCINATIONS PAR GAMETES

GRAPHIE SUR VACCINATION PAR LES FORMES INTRAERYTHROCYTAIRES

- ROWN KN et al., Immunization against P.knowlesi. Studies on the mode of action of Freund adjuvant in stimulating protection. Parasitology 1968 58 18p (résumé).
- ROWN KN et al. Immunity to malaria. I) Protection against P.knowlesi shown by monkeys sensitized with drug suppressed infections or by dead parasites in Freund's adjuvant. Exp.Parasito. 1970 28 304-317.
- ROWN KN - TANAKA A. Vaccination against P.knowlesi malaria. Trans.Roy. Soc.Trop.Med.Hyg. 1975 69 350-353.
- ROWN J et al. Specific antibody dependant cellular cytotoxicity in human malaria. Clin.Exp.Immuno. 1980 41 423-429.
- ROWN J et al. Inhibition of the in vitro growth of P.falciparum by human polymorphonuclear neutrophil leucocytes. Clin.Exp.Immuno. 1981 46 106-109.
- ABRERA EJ et al. Delayed dermal hypersensitivity in rhesus monkeys immunized against P.knowlesi. Z.Parasitenkd 1976 50 31-42.
- CLARK A et al. Protection of mice against Babesia and Plasmodia with BCG. Lancet 1976 I 309-311.
- CLARK IA et al. Protection, C.parvum, Babesia, Plasmodium in mice. Science 1976 194 204-206.
- COFFIN GS. Active immunization of birds against malaria. J.inf.Dis. 1951 39 1-7.
- COLLINS WE et al. Attempts to immunize monkeys against P.knowlesi by using heat stable serum soluble Ag. Am.J.Trop.Med.Hyg. 1977 26 373-376.
- CORRADETTI A. et al. Resistenza a Plasmodium berghei da parte di ratti albinici precedentemente immunizzati con P.berghei irradiato. Parasitologia 1966 8 133-145.
- D'ANTONIO LE et al. Vaccination of rhesus monkeys against P.knowlesi malaria with partially purified plasmodial fractions. Fed.Proce. 1971 30 303.
- D'ANTONIO LE et al. P.berhei. Vaccination of mice against malaria with heat inactivate parazitized blood. Exp.Parasito. 1971 31 82-97.
- D'ANTONIO LE. Plasmodium. A resume of the isolation of a vaccine fraction by the french pressure cell technique. Exp.Parasito. 1972 31 75-81.
- D'ANTONIO LE. Vaccination against malaria : Evaluation of a plasmodial vaccine fraction and a preliminary study of some immunologic adjuvants in a primate model system. A brief report. J.Am.Osteopathic.Ass. 1974 73 601-603.
- DESOWITZ RS. Immunization of rats against P.berghei with Plasmodium homogenate, carboxymethyl cellulose bound homogenate and carboxyl methyl cellulose followed by administration of immune gamma globulins. Protozoology 1967 2 105-111.

- 17 - DESOWITZ RS. P.berghei : immunogenic enhancement of Ag by adjuvant addition. Exp.Parasito. 1975 38 6-13.
- 18 - EATON MD - COGGSHALL LT. Production in monkeys of complement fixing antibodies without active immunity by injection of killed P.knowlesi. J. Exp.Med. 1939 70 141-146.
- 19 - EPSTEIN N et al. Monoclonal antibodies against a specific surface determinant on malaria P.knowlesi merozoites block erythrocyte invasion. J.Immuno. 1981 127 212-217.
- 20 - FREEMAN RR et al. Protective monoclonal antibodies recognising stage specific merozoite Ag of a rodent malaria parasite. Nature 1980 27 366-368.
- 21 - FREUND J et al. Immunization against malaria vaccination of ducks with killed parasites incorporated with adjuvants. Science 1945 102 200-201.
- 22 - GINGRICH WD. Immunization of birds to P.cathemerium. J.Inf.Dis. 1941 68 46-52.
- 23 - GREEN TJ - KREIER J.P. Demonstration of the role of cytophilic antibodies in resistance to malaria parasites P.berghei in rats. Infect.Immuno. 1978 19 138-145.
- 24 - GREEN TJ et al. Serum inhibition of merozoite dispersal from P.falciparum schizonts ; indicator of immune status. Infect.Immuno. 1981 31 1203-1208.
- 25 - GROTHAUS GD - KREIER JP. Isolation of a soluble component of P.berghei which induces immunity in rats. Infect.Immuno. 1980 28 245-253.
- 26 - HUNTER KW et al. Serum opsonic activity in rodent malaria. Functional and immunochemical characteristics in vitro. J.Immuno. 1979 123 2582-2587.
- 27 - JACOBS HR. Immunization against malaria. Increased protection by vaccination of Ducks - lings with saline in soluble residues of P.lophure mixed with bacterial toxin. Am.J.Trop.Med.Hyg. 1943 23 597-606.
- 28 - JERUSALEM C et al. Active immunization against P.berghei malaria in mice using different preparations of plasmodial antigens and different pathway of administration. Bull.OMS. 1969 40 807-818.
- 29 - KILEJIAN A. Histidine rich protein as a model malaria vaccine. Science 1978 201 922-924.
- 30 - LAMON G et al. P.falciparum : assay of invasion of erythrocytes. Exp. Parasito. 1981 51 74.
- 31 - LANGRETH SG - RESSE RT. Antigenicity of the infected erythrocytes and merozoite surfaces in falciparum malaria. J.Exp.Med. 1979 150 1241-1242.
- 32 - MILLER LH et al. Malaria (P.knowlesi) merozoites : immunity and the surface coat. J.Immuno. 1975 114 1237-1242.
- 33 - MITCHELL GH et al. A freeze dried merozoite vaccine effective against P.knowlesi malaria. Clin.Exp.Immuno. 1977 28 276-279.

- 34 - MITCHELL GH. A review of merozoite vaccination against P.knowlesi malaria. Trans.Roy.Soc.Trop.Med.Hyg. 1977 71 281-282.
- 35 - MITCHELL GH et al. Merozoite vaccination of Douroucouli monkeys against falciparum malaria. Lancet 1977 1 1335-1338.
- 36 - MITCHELL GH et al. Nor-MDP, saponin, corynebacterium and pertussis organisms as immunological adjuvants in experimental malaria vaccination of macaques. Bull.OMS. 1959 57 (suppl) 189-197.
- 37 - PERRIN LH et al. P.falciparum: characterization of defined Ag by monoclonal antibodies. Clin.Exp.Immuno. 1980 41 91-96.
- 38 - PERRIN LH et al. Inhibition of P.falciparum growth in human erythrocytes by monoclonal antibodies. Nature 1981 289 301-303.
- 39 - PERRIN LH et al. Antigenic characterization of plasmodia using monoclonal antibodies. Unpublished Document WHO/MAL/81.938 1981.
- 40 - PHILLIPS RS et al. Culture of P.falciparum in vitro. A subculture technique used for demonstrating antiplasmodial activity in serums from gambian residents in an endemic malarious area. Parasitology 1972 65 525-535.
- 41 - PLAYFAIR et al. Protection of mice against malaria by killed vaccine. Difference in effectiveness against P.yoelii and P.berghei. Immunology 1977 33 507-515.
- 42 - REDMOND WB. Immunization of birds to malaria by vaccination. J.Parasito. 1939 25 28.
- 43 - REESE et al. Immunization against malaria with antigen from in vitro cultivation P.falciparum. Proc.Natl.Acad.Sci.USA. 1978 75 5665.
- 44 - REISEN WK - HILLIS TC. Failure to protect Mus musculus against P.berghei with foot pat injections of killed parasites incorporated in complete Freund adjuvant. J.Parasito. 1975 61 937-940.
- 45 - RICHARDS WHG. Active immunization of chicks against P.gallinaceum by inactivated homologous sporozoites and erythrocytic parasites. Nature 1966 212 1492-1494.
- 46 - RICHARDS WHG et al. Merozoite vaccination of rhesus monkeys against P.knowlesi malaria: Immunity to sporozoites (mosquito transmitted) challenge. Parasitology 1977 74 191-198.
- 47 - RIECKMANN KH et al. Malaria immunity induced by infection with cultured parasites of P.falciparum. J.Parasito. 1978 64 750-752.
- 48 - SADUN EH et al. Resistance produced in the lowl monkeys (Aotus trigirvatus) by inoculation with irradiated P.falciparum. Milit.Med. 1969 134 1165-1175.
- 49 - SAUL KW - KREIER JP. P.berghei: immunization of rats with antigens from a population of free parasites rich in merozoites. Tropenmed. Parasito. 1977 28 302-318.

- 50 - SCHENKEL RH et al. Vaccination of rhesus monkeys against P.knowlesi by the use of a non viable antigen. Bull.OMS. 1973 48 597-604.
- 51 - SCHENKEL RH et al. New adjuvant for use against malaria. J.Parasito. 1975 61 549-550.
- 52 - SHORT EH - MENON KP. Attempt to produce active immunity to malaria in monkeys by vaccination with parasitic substance. J.Malar.Inst.India. 1940 3 191-193.
- 53 - SIDDIQUI WA. An effective immunization of experimental monkeys against a human parasite P.falciparum. Science 1977 197 (4301) 388-389.
- 54 - SIDDIQUI WA et al. Partial protection of P.falciparum vaccinated Aotus trigirvatus against challenge of a heterologous strain. Am.J.Trop.Med. Hyg. 1978 27 1277-1278.
- 55 - SIDDIQUI WA et al. In vitro cultivation and partial purification of P.falciparum antigen suitable for vaccination studies in Aotus monkeys. J.Parasito. 1978 64 168-169.
- 56 - SIDDIQUI WA et al. Vaccination of experimental monkeys against P.falciparum: a possible safe adjuvant. Science 1978 201 1237-1239.
- 57 - SIMPSON GL et al. Vaccination of rhesus monkeys against malaria by use of sucrose density gradient fractions of P.knowlesi antigens. Nature 1974 247 304-305.
- 58 - TARGETT GAT - FULTON JD. Immunization of rhesus monkeys against P.knowlesi malaria. Exp.Parasito. 1965 17 180-193.
- 59 - THOMPSON KJ et al. Immunization of ducks against malaria by means of killed parasites with or without adjuvant. Am.J.Trop.Med.Hyg. 1947 27 79-105.
- 60 - UDEINYA IJ et al. Science 1981 213 555.
- 61 - VOLLER A - RICHARDS WHG. An attempt to vaccinate owl monkeys (A.trigirvatus) against falciparum malaria. Lancet 1968 11 1172-1174.
- 62 - WELLDE BT - SADUN EH. Resistance produced in rats and mice by exposure to irradiated P.berghei. Exp.Parasito. 1967 21 310-324.
- 63 - WELLDE BT et al. Immunization of A.trigirvatus against P.falciparum with irradiated blood forms. Bull.OMS. 1979 (suppl) 153-157.
- 64 - WILSON RJM - PHILLIPS RS. Methods to test inhibitory antibodies in human sera to wild population of P.falciparum. Nature 1976 263 132.
- 65 - ZUCKERMAN A. Active immunization of rats with a cell free extracts of the erythrocytic parasite of P.berghei. Exp.Parasito. 1967 21 84-97.

III - TENTATIVES DE VACCINATION PAR LES SPOROZOITES

Le sporozoïte est le stade parasitaire inoculé par le moustique et infectant pour l'homme. La destruction des sporozoïtes, avant leur pénétration dans le foie, par des anticorps ou des cellules immunocompétentes aboutira donc à la protection de l'homme vivant en milieu endémique et soumis à des infections itératives. C'est en partant de ce postulat que de nombreux auteurs ont tenté de produire une immunité protectrice contre les sporozoïtes chez différents hôtes.

3-1- LES TENTATIVES D'IMMUNISATION

MULLIGHAN et al. 1941 furent les premiers à montrer que des sporozoïtes de plasmodium étaient susceptibles d'induire une immunité protectrice chez les oiseaux. Depuis, de nombreuses tentatives ont été réalisées dans différents modèles expérimentaux et chez l'homme : la poule et *P. gallinaceum*, les rongeurs (rats et souris) et *P. berghei* essentiellement, le singe Rhesus et les Plasmodium de primates non humains comme *P. knowlesi* et *P. cynomolgi*, enfin chez l'homme avec *P. falciparum* et *P. vivax*.

Différents types d'antigènes ont été essayés : des sporozoïtes atténués par l'irradiation aux rayons X ou aux UV, des sporozoïtes tués par la chaleur, le formol ou la lyophilisation ; des extraits solubles de sporozoïtes après sonication ou congélations-décongélations successives, ou des sporozoïtes vivants infectieux dont l'introduction est suivie d'un traitement antipalustre. Le meilleur antigène semble être le sporozoïte irradié atténué qui a perdu son infectivité tout en conservant son immunogénicité. Les sporozoïtes tués ou les fractions solubles de sporozoïtes induisent une faible immunité ou un échec. Toutefois les doses d'antigène injecté doivent être importantes et répétées sur plusieurs mois.

Différentes voies d'introduction ont été utilisées : les piqûres de moustiques infectés-irradiés, l'introduction, IV, IM, S/c intrapéritonéale et per os des sporozoïtes atténués. Seules les 2 premières voies d'introduction donnent des résultats. Les principaux résultats sont rassemblés dans le tableau IV.

3-2- POTENTIALISATION DE L'IMMUNITÉ

L'introduction intraveineuse des sporozoïtes en grande quantité et de manière répétée semble induire une protection solide mais de courte durée. L'addition d'adjuvants comme le *Corynebacterium parvum* ou le BCG en IV avant ou avec l'antigène renforce toutefois cette immunité mais n'augmente pas sa durée. Le BCG IV notamment induit une immunité non spécifique de très courte durée. A notre connaissance il n'y a pas eu de potentialisation par les adjuvants complet ou incomplet de Freund, probablement à cause du fait qu'ils nécessitent une introduction obligatoirement IM de l'antigène, voie inefficace.

3-3- LES MANIFESTATIONS DE L'IMMUNITÉ PROTECTRICE

Cette immunité acquise est spécifique de stade chez tous les modèles expérimentaux (NUSSENWEIG et al., 1969b) (NUSSENWEIG et CHEN, 1974a) (CLYDE et al., 1973b) (RIECKMANN et al., 1974).

Elle est aussi spécifique d'espèce chez le singe et l'homme (NUSSENWEIG et CHEN 1974a) (CLYDE et al., 1973b) (RIECKMANN et al., 1974). Chez le ron-

geur, l'immunoprotection induite n'est pas spécifique d'espèce (NUSSENWEIG et al., 1972a).

Cette immunité est, en général, forte chez le rongeur et le singe mais nécessite, au moins chez le singe la multiplication des doses vaccinales et l'introduction de fortes quantités de sporozoïtes. La potentialisation par un adjuvant ne semble pas nécessaire. Cette immunité de protection se caractérise par la destruction rapide des sporozoïtes de réinfection, avant leur "enkystement" dans le foie (NUSSENWEIG et al., 1972b). Cette immunité réduit considérablement le nombre des stades exoérythrocytaires et érythrocytaires du parasite (NUSSENWEIG et al., 1972c).

Cette immunité de protection est à la fois cellulaire et humorale. La protection d'origine cellulaire a été très peu étudiée. SPITALNY et al., 1977 ont montré que des souris vaccinées athymiques ou dépourvues de cellules T étaient incapables d'acquiescer une protection contre une infection d'épreuve par des sporozoïtes intacts. Le transfert passif de lymphocytes spléniques de souris vaccinées à des souris saines, engendre une certaine protection contre l'infection d'épreuve par des sporozoïtes normaux (VERHAVE et al., 1978). La destruction des cellules de ce transfert splénique, par un sérum anti theta abolit la protection qui dépend donc des lymphocytes.

La protection d'origine humorale a été plus longuement étudiée. Elle est amplement démontrée par des expériences de transfert de sérum immun à des animaux hôtes sains (NUSSENWEIG et al., 1972a). Mais il faut noter que cette protection d'origine humorale est moins forte que celle engendrée par la vaccination ce qui confirme l'existence d'un autre mécanisme de protection associé.

Des Ac neutralisants l'infectivité des sporozoïtes ont été mis en évidence chez des souris vaccinées (NUSSENWEIG et al., 1969a). Le taux de ces Ac protecteurs semble proportionnel à l'intensité de la protection (SPITALNY, 1973). Cette activité protectrice est aussi spécifique de stade et non d'espèce chez le rongeur (VANDERBERG et al., 1972) (NUSSENWEIG et al., 1972a). Chez le singe on retrouve le même type de données que chez la souris : les Ac neutralisants existent aussi bien pour *P. cynomolgi* (CHEN, 1974) que pour *P. knowlesi* (GWADZ et al., 1979). Le taux est proportionnel à l'intensité de la protection (CHEN, 1974) (GWADZ et al., 1979). Cette immunité humorale est spécifique de stade et d'espèce chez le singe, comme l'immunité de protection. Mais elle n'est pas spécifique de souche (NUSSENWEIG et CHEN, 1974b).

2-4- LES ANTIGÈNES PROTECTEURS

Les anticorps protecteurs ont pour cible le sporozoïte. De nombreux auteurs (NARDIN et NUSSENWEIG, 1978) (COCHRANE et al., 1976) (AIKAWA et al., 1979) ont montré que les Ac antisporeozoïtes étaient principalement dirigés contre des Ag de surface. La technique des hybridomes a permis d'isoler un certain nombre d'Ac monoclonaux contre les Ag de surface du sporozoïte de *P. berghei* (YOSHIDA et al., 1980), (YOSHIDA et al., 1981) de *P. knowlesi* (COCHRANE et al., 1981) ; de *P. cynomolgi* (HIL non publié) et même contre des sporozoïtes humains *P. falciparum* et *P. vivax* (NARDIN non publié).

L'un des Ac monoclonaux contre le sporozoïte de *P. berghei* est spécifique de stade (AIKAWA et al., 1981) et dirigé contre une fraction Ag de surface de PM 44000 (YOSHIDA et al., 1980). Cet Ac monoclonal incubé avec des sporozoïtes homologues abolit leur infectivité et induit *in vitro* une neutralisation (POTOCNJAK et al., 1980) (HOLLINGDALE et al., 1981). Il s'agit donc

très certainement d'un Ac protecteur. Le transfert passif d'une très faible quantité de cet Ac monoclonal suffit en effet à induire une protection chez la souris contre une infection d'épreuve avec des sporozoïtes (POTOCNJAK et al., 1980). Une série d'Ac monoclonaux ont été aussi obtenus avec *P. knowlesi*. Au moins 4 des Ac abolissent l'infectivité du sporozoïte (COCHRANE et al., 1981). L'isolement et la caractérisation des Ag correspondants sont en cours. Il en est de même pour *P. falciparum* et *P. vivax*.

2-5- L'EXPLORATION DE L'IMMUNITÉ DE PROTECTION

Trois techniques sérologiques sont actuellement utilisées pour mesurer la réponse humorale aux sporozoïtes : c'est le test de circumsporozoïte précipité (CSP) le test d'immunofluorescence sur sporozoïtes vivants et le test de neutralisation (NUSSENWEIG et al., 1969a) (VANDERBERG et al., 1970) (NARDIN et al., 1978). Une certaine corrélation est notée entre ces tests *in vitro* et l'efficacité de la réponse immunitaire (NUSSENWEIG et al., 1971a) (SPITALNY et NUSSENWEIG, 1973) (MC CARTHY et CLYDE, 1977). Mais cette corrélation n'est pas constante. Il existe un test d'agglutination des sporozoïtes dont le titre des agglutinines semble être proportionnel à l'efficacité vaccinale au moins dans le modèle expérimental de la poule et de *P. gallinaceum* (MULLIGHAN et al., 1941). Mais ces tests ne sont pas applicables en médecine de masse du fait de leur forte consommation en matériel antigénique. L'absence de corrélation entre réponse humorale antiporozoïtaire et protection est probablement due aux mécanismes cellulaires de protection associés aux mécanismes humoraux. Il est donc important de trouver un test explorant l'immunité cellulaire et notamment les mécanismes de cytotoxicité médiés par les Ac, mécanismes qui ont probablement un rôle important dans l'immunité acquise contre les sporozoïtes.

CONCLUSION

L'induction d'une immunité protectrice contre les sporozoïtes du plasmodium est possible et ceci quel que soit l'hôte et l'espèce plasmodiale en cause. Cette immunité est spécifique de stade et d'espèce au moins chez les primates. Elle est forte et ne semble pas nécessiter l'addition d'un adjuvant de l'immunité. Cette immunité se caractérise par la destruction quasi totale des sporozoïtes introduits par le moustique chez l'hôte vertébré. Les formes exoérythrocytaires sont très réduites et la parasitémie sanguine toujours faible. C'est donc un type de vaccination particulièrement séduisant.

Mais se posent un certain nombre de problèmes pratiques : comment obtenir des Ag en quantité suffisante ? L'isolement de fractions antigéniques apparemment protectrices n'a pas encore fait l'objet d'études importantes chez l'animal ou l'homme. Si le sporozoïte entier est vaccinant on ne sait pas encore si les fractions antigéniques isolées par les techniques d'hybridome sont immunogènes. Différents mécanismes cellulaires et humoraux entrent en jeu et chacun répond à la stimulation spécifique d'une fraction antigénique du parasite. Les fractions susceptibles d'induire une réponse humorale ne sont pas les seuls responsables de l'immunité. Il sera donc nécessaire de coupler plusieurs de ces fractions pour obtenir une immunité aussi complète que celle induite par le sporozoïte entier. Deuxième problème, il faudra certainement utiliser des adjuvants de l'immunité pour réduire le nombre des doses vaccinales.

Néanmoins, la vaccination antiporozoïtaire est actuellement la plus en faveur et la plus avancée. Les techniques de combinaison d'ADN permettent actuellement la synthèse de grandes quantités de fractions antigéniques spécifiques.

TABLEAU IV

TENTATIVES DE VACCINATION PAR LES SPOROZOÏTES DE PLASMODIUM

MODELE EXPERIMENTAL	METHODE D'IMMUNISATION	ADJUVANT	D'ADMINISTRATION	RESULTATS	AUTEURS
Poule - <i>P. gallinaceum</i>	sporozoïtes atténués UV	-	IV	Protection forte	MULLIGHAN et al., 1941
Poule - <i>P. gallinaceum</i>	sporozoïtes atténués UV	-	IV	protection forte	RUSSEL et MOHAN, 1942 RUSSEL et al., 1942
Souris - <i>P. berghei</i>	sporozoïtes irradiés	-	IV unique-ment	protection forte	NUSSENWEIG et al., 1967
Souris - <i>P. berghei</i>	sporozoïtes irradiés	-	IV à plusieurs	protection proportionnelle au Nb IV	NUSSENWEIG et al., 1969a
Souris - <i>P. berghei</i>	sporozoïtes irradiés	-	IV plusieurs	protection forte	BEAUDOIN et al., 1976
Souris - <i>P. berghei</i>	sporozoïtes irradiés	-	piq. de moustique irradié ou IV répétées	protection forte	VANDERBERG et al., 1970
Souris - <i>P. berghei</i>	sporozoïtes irradiés	-	Différentes voies d'administration	Echec	SPITALNY et NUSSENWEIG 1972
Rat - <i>P. berghei</i>	sporozoïtes non atténués	-	piq. moustique IV + traitement	protection forte	VERHAVE, 1975
Souris - <i>P. berghei</i>	sporozoïtes non atténués	-	IV + traitement	protection forte	BEAUDOIN et al., 1975
Souris - <i>P. berghei</i>	sporozoïtes chauffés	-	IV répétées	protection forte	ALGER et al., 1972
Souris - <i>P. berghei</i>	sporozoïtes lyophilisés sporozoïtes formolés	-	IV répétées "	protection faible "	BEAUDOIN et al., 1975
Souris - <i>P. berghei</i>	sporo. cong/décong. sporo. soniqués	-	IV répétées "	protection partielle "	SPITALNY et NUSSENWEIG 1972
Souris <i>P. berghei</i>	sporozoïtes fractionnés	-	IV répétées	Echec	?
Souris <i>P. berghei</i>	sporozoïtes irradiés	C. parvum	IV répétées	renforcement protection	NUSSENWEIG, 1967
Souris - <i>P. berghei</i>	sporozoïtes irradiés	BCG	IV répétées	protection renforcée courte durée	SMRKOVSKI et BEAUDOIN, 1978
Rhesus - <i>P. cynomolgi</i>	sporozoïtes irradiés	-	IV répétées	protection partielle	COLLINS et CONTACOS, 1972

Rhesus - <i>P.cynomolgi</i>	sporozoites irradiés	-	Différentes voies d'administration	Protection proportion nelle à dose et Nb IV	CHEN, 1974
Rhesus - <i>P.knowlesi</i>	sporozoites irradiés	-	IV répétés	protection forte	GWADZ et al., 1978
Rhesus - <i>P.cynomolgi</i>	sporozoites irradiés	-	piq.moustique irradiés	Echec	WARD et HAYES, 1972
Rhesus - <i>P.cynomolgi</i>	sporozoites irradiés	-	piq. moustique irradiés répétés	protection forte	CHEN, 1974
Rhesus - <i>P.knowlesi</i>	sporozoites irradiés	FCA	IM 1 ou 2	Echec	GWADZ et al., 1979
Rhesus - <i>P.cynomolgi</i>	sporozoites irradiés	<i>C.parvum</i>	IV répétés	protection partielle	CHEN, 1974
Homme - <i>P.vivax</i>	sporozoites dégénérés	-	piq. moustique	Echec	BOYD et KITCHEN, 1936
Homme - <i>P.falciparum</i> et <i>P.vivax</i>	sporozoites irradiés	-	piq. moustique irradiés répétés	protection forte	CLYDE et al., 1973a et b, 1975
Homme - <i>P.vivax</i>	sporozoites irradiés	-	piq. moustiques irradiés et répé- tés	protection forte	McCARTHY et CLYDE, 1977
Homme - <i>P.falciparum</i>	sporozoites irradiés	-	piq. moustiques irradiés et répé- tés	protection forte	RIECKMANN et al., 1974
Homme - <i>P.falciparum</i>	sporozoites irradiés	-	IM répétée 2 fois	Echec	BRAY, 1976

BIBLIOGRAPHIE SUR LES VACCINATIONS PAR LES SPOROZOITES

- 1 - AIKAWA M et al. A freeze fracture study of malarial sporozoites : antibody induced changes of the pellicular membranes. J.Protozool. 1979 26 273-279
- 2 - ALGER et al. Sporozoite and normal salivary gland induced immunity in malaria. Nature 1972 238 341-343.
- 3 - BAWDEN MP et al. Development of serologic test specific for malaria parasites. Proc.Cong.Parasito. 4th 1978 Short comm.Secte pp 113-114.
- 4 - BAWDEN MP et al. Malaria vaccination with irradiated sporozoites : serologic evaluation of the antigen and antibody responses. Bull.OMS 1979 57 supplt 205-209.
- 5 - BEAUDOIN RL et al. Immunogenicity of sporozoites of the ANKA strain of *P.berghei* following different treatments. An.Soc.Parasito. Abst. 1975 231 98-99.
- 6 - BEAUDOIN RL et al. *P.berghei* : irradiated sporozoites of the ANKA strain as immunizing Ag in mice. Exp.Parasito. 1976 39 438-443.
- 7 - BEAUDOIN RL et al. *P.berghei* : immunisation of mice against the ANKA strain using unaltered sporozoites as Ag. Exp.Parasito. 1977 42 1-5.
- 8 - BOYD MF et KITCHEN S.F. Is the acquired heterologous immunity to *P.vivax* effective against sporozoites and trophozoites ? Am.J.Trop.Med. 1936 16 317-322.
- 9 - BRAY RS. Vaccination against *P.falciparum* : A negative result. Trans.Roy Soc.Trop.Med.Hyg. 1976 70 258.
- 10 - CHEN D. Aspects of host-parasite interactions in the rhesus - *P.cynomolgi* *A.stephensi* system. PhD Thesis N.Y. University School of med. 1974.
- 11 - CHEN DH et al. Immunity to sporozoite induced malaria infection in mice. I) The effect of immunization of T and B cell deficient mice. J.Immuno. 1977 118 1322-1327.
- 12 - COCHRANE AH et al. Antibody induced ultrastructural changes of malarial sporozoites. J.Immuno. 1976 116 859-867.
- 13 - CLYDE DF et al. Immunization of man against sporozoite induced falciparum malaria Am.J.Med.Sci. 1973 (a) 266 169-177.
- 14 - CLYDE DF et al. Specificity of protection of man immunized against sporozoite induced falciparum malaria. Am.J.Med.Sci. 1973 (b) 266 398-403.
- 15 - CLYDE DF et al. Immunization of man against falciparum and vivax malaria by use of attenuated sporozoites. Am.J.Trop.Med.Hyg. 1975 24 397-401.
- 16 - COLLINS WE et CONTACOS PG. Immunization of monkeys against *P.cynomolgi* by X irradiated sporozoites. Nature New Biol. 1972 236 176-177.
- 17 - CORRADETTI A et al. Resistenze a *P.berghei* da parte di ratti albini precedentemente immunizzati con *P.berghei* irradiato. Parasitologia. 1966 8 133-145.

- 18 - GOLENSER J et al. Studies on the role of antibodies against sporozoites in *P.berghei* malaria. Isr.J.Med.Sci. 1978 14 606-610.
- 19 - GWADZ RW - GREEN I. Malaria immunization in rhesus monkeys : A vaccine effective against both the sexual and asexual stages of *P.knowlesi*. J. Exp.Med. 1978 148 1311-1323.
- 20 - GWADZ RW et al. Preliminary studies on vaccination of rhesus monkeys with irradiated sporozoites of *P.knowlesi* and characterization of surface antigens of these parasites. Bull.OMS. 1979 57 supplt 165-173.
- 21 - McCARTHY V et CLYDE DF. *P.vivax* : corrélation of circumsporozoite precipitation (CSP) reaction with sporozoite induced protective immunity in man. Exp.Parasito. 1977 41 167-171.
- 22 - MULLIGHAN HW et al. Active immunization of fowls against *P.gallinaceum* by injection of killed homologous sporozoites. J.Malar.Inst.India. 1941 4 25-34.
- 23 - NARDIN EH et NUSSENWEIG RS. Stage specific antigens on the surface membrane of sporozoites of malaria parasites. Nature 1978 274 55-57.
- 24 - NUSSENWEIG RS. Increased non specific resistance to malaria produced by administration of killed *C.parvum*. Exp.Parasito. 1967 21 224-231.
- 25 - NUSSENWEIG RS et CHEN D. Some characteristics of the immune response to sporozoites of simian and human malaria. Bull.PAHO. 1974 (a) 8 198-204.
- 26 - NUSSENWEIG RS et CHEN D. The antibody response to sporozoites of simian and human malaria parasites : its stage and species specificity and strain cross reactivity. Bull.OMS. 1974 (b) 50 293-297.
- 27 - NUSSENWEIG RS et al. Protective immunity produced by the injection of X irradiated sporozoites of *P.berghei*. Nature 1967 216 160-162.
- 28 - NUSSENWEIG RS et al. Protective immunity produced by the injection of X irradiated sporozoites of *P.berghei*. IV) dose response, specificity and humoral immunity Mil.Med. 1969 (a) 134 supplt 1176-1182.
- 29 - NUSSENWEIG RS et al. Specificity of protective immunity produced by X irradiated *P.berghei* sporozoites. Nature 1969 (b) 222 488-489.
- 30 - NUSSENWEIG RS et al. Immunity in simian malaria induced by X irradiated sporozoites. J.Parasito. 1970 56 (Sect. II 2nd Int Cong) Abstr N°459 p. 252.
- 31 - NUSSENWEIG RS et al. Sporozoite induced immunity in mammalian malaria. A review. Am.J.Trop.Med.Hyg. 1972 (a) 21 722-728.
- 32 - NUSSENWEIG RS et al. *P.berghei* : accelerated clearance of sporozoites from blood as part of immune mechanism in mice. Exp.Parasito. 1972 (b) 31 88-97.
- 33 - ORJIH AU et NUSSENWEIG RS. *P.berghei* : suppression of antibody response to sporozoite stage by acute blood stage infection. Clin.Exp.Immuno. 1979 38 1-8.
- 34 - ORJIH AU et NUSSENWEIG RS. Immunization against rodent malaria with cryopreserved irradiated sporozoites of *P.berghei*. Am.J.Trop.Med.Hyg. 1980 29
- 35 - PACHECO ND et BEAUDOIN RL. Single dose immunization using irradiated sporozoites of *P.berghei*. Proc.Cong.Parasito. 1978 4th short comm Sect E pp. 114-115.
- 36 - PACHECO ND et al. Duration of immunity following a single vaccination with irradiated sporozoites of *P.berghei*. Bull.OMS. 1979 57 supplt 159-163.
- 37 - POTOENJK P. et al. Monovalent fragments (Fab) of monoclonal antibodies to a sporozoite surface Ag (Ph 44) protect mice against malarial infection J/Exp.Med. 1980 51 1504-1513.
- 38 - RIECKMANN KH et al. Sporozoite induced immunity in man against an Ethiopian strain of *P.falciparum*. Trans.Roy.Soc.Trop.Med.Hyg. 1974 68 258-259
- 39 - RIECKMANN KH et al. Clinical studies with a sporozoite vaccine against falciparum malaria. Bull.OMS. 1979 57 supplt 261-265.
- 40 - RUSSELL PF et MOHAN BN. The immunization of fowls against mosquito borne *P.gallinaceum* by injections of serum and of inactivated homologous sporozoites. J.Exp.Med. 1942 76 477-495.
- 41 - RUSSELL PF et al. Active immunization of fowls against sporozoites but not trophozoites of *P.gallinaceum* by injection of homologous sporozoites J.Malar.Inst.India. 1942 4 311-319.
- 42 - SMRKOVSKEI LL et BEAUDOIN RL. Suppression of irradiated sporozoite induced protective immunity in rodent malaria by BCG. Proc.Int.Cong.Parasito 4th 1978 short comm Sect E p. 113.
- 43 - SMRKOVSKEI LL and STRICKLAND GT. Rodent malaria : BCG induced protection and immunosuppression. J.Immuno. 1978 121 1257-1261.
- 44 - SPITALNY GL. Immunological aspects of sporozoite induced resistance in rodent malaria PhD Thesis N.Y. University school of Med. 1973.
- 45 - SPITALNY GL et NUSSENWEIG RS. Effect of various routes of immunization and methods of parasite attenuation on the development of protection against sporozoite - induced rodent malaria. Proc.Helminth.Soc.Wash. 1972 39 506-514.
- 46 - SPITALNY GL et NUSSENWEIG RS. *P.berghei* : relationship between protective immunity and ant sporozoite (CSP) antibody in mice. Exp.Parasito. 1973 33 168-178.
- 47 - SPITALNY GL et al. *P.berghei* T cell dependence of sporozoite induced immunity in rodent. Exp.Parasito. 1977 42 73-81.
- 47 - VANDERBERG JP. Inactivity of rodent malaria ant sporozoite antibodies against exoerythrocytic forms. Am.J.Trop.Med.Hyg. 1973 22 573-577.
- 48 - VANDERBERG JP et al. Protective immunity produced by the injection of X irradiated sporozoites of *P.berghei*. II) effects of radiation on sporozoites. J.Parasito. 1968 54 1175-1180.

- 49 - VANDERBERG JP et al. Protective immunity produced by the injection of X irradiated sporozoites of *P.berghei*. V) In vitro effects of immune serum on sporozoites Mil.Med. 1969 suup. 134 1183-1190.
- 50 - VANDERBERG JP et al. Protective immunity produced by the bite of X irradiated mosquitoes infected with *P.berghei*. J.Parasito. 1970 56 350-351.
- 51 - VANDERBERG JP et al. Stage specificity of ant sporozoites antibodies in rodent malaria and its relationship to protective immunity. Proc.Helminth.Soc.Wash. 1972 39 514-525.
- 52 - VERHAVE JP. Immunization with sporozoites : An experimental study of *P.berghei* malaria. PhD Thesis Katholiers University te Nijmegen Netherlands 1975.
- 53 - VERHAVE JP et al. Studies on the transfer of protective immunity with lymphoid cells from mice immune to malaria sporozoites. J.Immuno. 1978 121 1031-1033.
- 54 - WARD RA et HAYES DE. Attempted immunization of rhesus monkeys against cynomolgi malaria with irradiated sporozoites. Proc.Helminth.Soc.Wash. 1972 39 525-529.
- 55 - WELLDE BT et SADUN EH. Resistance produced in rats and mice by exposure to irradiated *P.berghei*. Exp.Parasito. 1967 21 310-324.
- 56 - YOSHIDA N et al. Hybridoma produces protective antibodies directed against the sporozoite stage of malaria parasite. Science 1980 207 71-73.

CONCLUSION GENERALE

La vaccination antipalustre a présenté ces dernières années un regain d'intérêt. En effet les méthodes classiques de lutte (insecticides et chimiothérapie) se sont avérées décevantes.

Trois stades parasitaires sont principalement visés par les mécanismes immunoprotecteurs :

- le gamète qui est responsable de l'infection chez le vecteur et de la transmission ;
- le mérozoïte qui est responsable de l'invasion des globules rouges de l'hôte et de l'accès palustre ;
- le sporozoïte qui est responsable de l'infection humaine.

Ces mécanismes immunoprotecteurs sont spécifiques d'espèce et de stade. La protection engendrée par le gamète est forte mais n'est susceptible que de limiter la transmission du paludisme.

La protection engendrée par les formes asexuées intraérythrocytaires est partielle et ne peut que limiter la mortalité due au Plasmodium. Celle engendrée par les sporozoïtes est forte, limite la mortalité et la morbidité du paludisme sans intervenir sur l'infection antérieure à la vaccination.

L'immunoprotection nécessite la répétition rapprochée des doses vaccinales. La mise au point de nouveaux adjuvants de l'immunité devrait permettre non seulement l'espacement des rappels mais aussi le renforcement de leur efficacité.

L'immunoprotection nécessite l'utilisation de grandes quantités de matériel antigénique vivant. La culture *in vitro* est insuffisante pour une production industrielle. L'isolement des fractions antigéniques protectrices et leur synthèse à grande échelle par génie génétique permettront peut être de remplacer le parasite entier vivant. Mais les réponses immunoprotectrices ainsi déclenchées seront vraisemblablement partielles du fait de l'étroite spécificité de ces fractions antigéniques. Ceci nécessitera la combinaison des vaccins. D'autre part, les mécanismes immunitaires mis en jeu par ces fractions seront probablement complexes et peut être antagonistes. Ceci risque donc de soulever de nombreux problèmes d'efficacité.

Ainsi les progrès spectaculaires enregistrés au cours de ces dernières années, ouvrent des perspectives d'avenir très intéressantes mais de nombreuses difficultés subsistent. Aussi l'application à grande échelle en médecine humaine n'est-elle probablement pas pour demain.